

오디 발효액의 발효기간 동안 식중독 세균수의 변화

한상현* · 류송희¹ · 박운라 · 임은아 · 김세리 · 김원일 · 윤보현 · 김현주 · 류재기

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀
¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과

Microbial Population of Foodborne Pathogens during Fermentation of Mulberry Wort

Sanghyun Han*, Song Hee Ryu¹, Woonra Park, Euna Lim, Se-Ri Kim, Won-Il Kim,
Bohyun Yun, Hyun-Ju Kim, and Jae-Gee Ryu

*Microbial Safety Team, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, National Institute of
Agricultural Sciences (NAS), Rural Development Administration (RDA), Wanju 55365, Republic of Korea*

*¹Chemical Safety Division, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, NAS, RDA,
Wanju 55365, Republic of Korea*

(Received September 29, 2016/Revised October 7, 2016/Accepted November 1, 2016)

ABSTRACT - Mulberry is considered a healthy food for antioxidants and many other beneficial nutrients. However, food safety concerns exist as this commodity scarcely passes through a sanitizing step due to the fragile nature of mulberry fruits. Fermented mulberry wort is one traditional way to utilize and preserve mulberries by mixing with sugars although hygienic practices are not often implemented. The purpose of this study was to investigate the fate of foodborne pathogens in fermented mulberry wort. Microbial population of inoculated *E. coli* in mulberry wort showed a decreasing pattern as the fermentation progressed. A quicker decrease was observed in the mulberry wort mixed with sugar at 1 to 0.8 ratio (w/w, mulberry: sugar) compared to 1 to 1 ratio, which could be due to the amount of acids generated during the fermentation process. When fully-fermented mulberry wort was contaminated with foodborne pathogens, they all decreased in population although their decreasing patterns varied depending on the species of tested bacteria. Steep decreases in population of inoculated foodborne pathogens were observed when the fermented wort was stored at 30°C in comparisons to the other storage temperature, 5 and 20°C, regardless of bacterial species. This study necessitates the optimization of a sanitizing process during fermentation and storage of mulberry wort.

Key words : mulberry, fermented wort, contamination, food safety, foodborne pathogens

건강하고 풍요로운 삶을 추구하는 생활양식이 보편화되면서 먹거리의 기능성과 안전성에 대한 관심이 증대되고 있다. 농산물을 포함한 다양한 식품 중 기능성 기대효과에 따라 주목을 받고 있는 것이 발효식품이며, 이 중 하나가 식물발효액이다. 대부분의 식물발효액은 식물체를 설탕과 함께 섞어 일정기간 보관한 후 원료를 여과하여 얻은 액체로 최근 향산화성^{1,2)}, 항비만³⁾, 항암⁴⁾ 등의 효과에 대한 연구결과가 보고되고 있다. 주로 보편적인 방식으로 만들어지는 식물발효액은 제조 공정이 채소, 과일 등 농

산물을 설탕에 재워서 오랜 기간 동안 저장하고자 하는 식품 보존법의 일종인 당절임(sugaring)과 거의 유사하지만 설탕 농도 조절을 통해 원료 농산물에서 유래된 미생물이 발효를 일으킬 수 있도록 하는 과정이 포함될 수 있기 때문에 일반적인 당절임과는 구별된다고 할 수 있는데 현재 발효액, 효소액, 발효추출액, 발효음료, 효소음료, 발효원액 등 다양한 이름으로 불리우고 있으므로 식물발효액에 대한 명확한 개념정립과 정의가 필요한 상태이다⁵⁾. 식물발효액에 대한 명칭 뿐만 아니라 제조 공정도 제조자에 따라 다양하여 고농도의 설탕 때문에 발효가 이루어지지 않거나 발효 기간이 매우 길어져 생산 및 제품 관리에 어려움이 발생하는 등 발효액을 제품으로 만들어 판매하기 위해서는 제조 공정의 과학화 및 표준화가 필요한 실정이다. 특히, 발효액 제조가 대부분 소규모 농가 수준에

*Correspondence to: Sanghyun Han, Microbial Safety Team, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, NAS, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea
Tel: 82-63-238-3397, Fax: 82-63-238-3840
E-mail: Sanghyun.han@korea.kr

서 이루어지고 있어 발효액의 품질 및 상품성 향상뿐만 아니라 발효액 원료의 안전성 및 제조 과정에 대한 위생 관리방안 연구도 시급하다.

식물발효액의 원료가 되는 농산물은 생산 과정에서 주변 환경에 노출되기 때문에 언제 어디서든 오염이 발생할 수 있다. 일례로 미국에서는 농산물에 오염된 식중독세균이 원인이 되어 대규모 식중독사고가 일어난 바 있었고, 이로 인해 신선한 상태로 섭취되는 농산물이 가장 위험한 식품군으로 인식되는 결과로 나타나기도 했다^{6,8)}. 특히, 가열 등 멸균 전처리 과정이 없이 직접 섭취되거나 가공품 제조 공정에 곧바로 원료로 투입되는 농산물에 대한 안전성 우려는 더욱 크다고 할 수 있다. 이에 농산물 재배 단계부터 수확 후 처리, 저장, 포장, 출하에 이르기까지 전 단계에 걸쳐 농산물에 오염될 수 있는 각종 위해요소들을 사전에 배제하는 방식으로 안전성을 관리하는 현장 적용 실천규범인 Good Agricultural Practices (GAP)와 Good Hygienic Practices (GHP) 적용 필요성이 강조되고 있다.

최근 다른 농산물에 비해 기능성이 많이 알려진 블루베리, 라즈베리, 블랙베리, 아로니아베리 등 베리류에 대한 관심이 전세계적으로 증대되고 있으며, 실제로 국내에서도 오디와 블루베리 재배면적은 확대되고 있는 것으로 나타났다^{9,10)}. 베리류는 과실 특성상 상처 입거나 무르기 쉬워 일부만 생과로 유통되고, 나머지는 냉동 유통되거나 음료나 발효액 등 다양한 형태의 가공품으로 제조되고 있다. 대부분의 베리류 과피는 매우 연약하여 많은 소규모 농가가 한 알 한 알 손으로 따서 채취하는 손 수확 방식을 적용하고 있기 때문에 작업자 위생관리가 매우 중요한 데다가 더욱이 세척 등 오염을 제거하기 위한 전처리도 과실을 상하게 할 수 있으므로 원물 그대로 가공품 제조에 사용되는 실정이다. 그럼에도 불구하고 위생관리가 되지 않았거나 비의도적인 오염에 노출된 베리류 원물을 가공품 제조에 사용했을 경우를 가정 한 안전성 연구는 미진한 실정이다. 이에 본 연구에서는 베리류의 한 종류인 오디(*Morus alba*, mulberry)를 대상으로 식중독세균에 오염된 원물을 발효액 제조에 사용하였을 경우에 발효기간에 따른 세균수 변화를 조사하였다. 또한, 발효가 완료된 오디 발효액이 식중독세균에 오염되었을 경우에 보관온도에 따른 세균수 변화도 조사하였다. 궁극적으로는 안전하고 위생적인 오디 발효액 생산에 필요한 기초자료를 확보하고자 하였다.

Materials and Methods

사용균주

본 연구를 위하여 사용한 *E. coli* 및 식중독세균 균주는 *Escherichia coli* (KACC 11930), *E. coli* O157:H7 (ATCC 43890), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 19586), *S. Enteritidis*

(ATCC 4931), *Staphylococcus aureus* (ATCC 13565)이며, 오디 발효액 시료 중 존재 가능한 background microflora의 생육을 억제하여 사용 균주만을 선택적으로 분리하고자 rifampicin 항생제에 대한 저항성을 유도하여 실험에 사용하였다¹¹⁾. Rifampicin 저항성 유도 과정은 대상 균주별로 tryptic soy agar (TSA, Oxoid, UK)에서 하루 동안 배양한 후 1 colony를 취하여 50 µL/mL 농도의 rifampicin (Biosesang, Gyeonggi, Korea)이 함유된 tryptic soy broth (TSB, Oxoid, UK) 5 mL에 접종하고 37°C에서 24시간 진탕 배양하였다. 다시 배양액을 50 µL/mL 농도의 rifampicin이 함유된 TSA에 도말하고 37°C에서 24시간 배양하여 rifampicin 항생제에 저항성인 단일 colony를 얻었다. 선발한 rifampicin 저항성 균주는 50 µL/mL rifampicin 함유 TSB에 24시간 진탕배양하고 이 배양액에 glycerol 농도가 20%가 되도록 glycerol (Biosesang, Gyeonggi, Korea)을 첨가한 후 -70°C 초저온 냉동고에 저장하였다. 실험시에는 초저온보관 균주를 실온에서 천천히 해동한 후 50 µL/mL rifampicin 함유 TSA에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 1 colony를 취하여 50 µL/mL rifampicin 함유 TSB에 접종하고 다시 37°C에서 18시간 진탕배양하여 사용하였다. 배양된 균주는 3,134 g에서 10분간 원심분리한 후 상등액은 버리고 균체 pellet만 취해 phosphate buffer saline (PBS)에 현탁하여 생균수가 7~8 log CFU/mL이 되도록 희석한 후 본 연구에 사용하였다.

오디 발효액의 발효기간 중 *E. coli*, 대장균군 및 일반 호기성세균 세균수 변화

평균한 투명 유리병에 농가에서 구입한 냉동 오디 2 kg을 넣고 rifampicin 저항성이 유도된 *E. coli*의 세균수가 약 7.0 log CFU/g이 되도록 오디에 균일하게 접종하였다. *E. coli*를 접종한 방법과 동일하게 *E. coli* 대신 멸균수를 접종한 음성 대조구를 두었다. *E. coli* 접종 1시간 후에 시중에서 판매되는 백설탕을 발효액 원료인 오디 무게의 100%와 80%로 각각 첨가한 후 평균한 스테인리스 국자로 잘 섞어 20°C 배양기에서 발효가 되도록 보관하였다. 보관 후 0일, 4일, 7일, 11일, 2주, 3주, 4주, 6주, 8주, 10주, 12주에 각각의 발효병으로부터 10 mL의 오디 발효액 시료를 채취하여 *E. coli*의 세균수 변화를 조사하였다. 발효액이 미생물 성장과 증식에 적합한 환경인지를 알기 위하여 일반 호기성세균수 및 대장균군수도 같이 조사하였다. 채취한 10 mL의 발효액 시료에 10 mL의 멸균된 0.1% peptone water (PW)를 가하여 stomacher (Interscience, Bagmixoner 400VW, Nom la Bretèche, France)로 기기가 허용하는 가장 강한 세기에서 2분 동안 균질화시키고, 이 중 1 mL을 취하여 9 mL의 0.1% PW에 10배씩 단계별로 희석하였다. 희석액은 각각 50 µL/mL rifampicin 함유 TSA에 0.25 mL씩 분주하여 도말하였다. 일반 호기성세균수 조

사를 위해서는 각각의 희석액 1 mL을 Petrifilm aerobic count plate (3M, MN, USA)에 분주하였으며, 대장균군 조사를 위해서는 각각의 희석액 1 mL을 Petrifilm *E. coli*/Coliform count plate (3M, St. Paul, MN, USA)에 분주하였다. 도달된 배지는 37°C에서 24시간 배양한 후 배지에서 자란 집락(colony) 수를 계수하였다.

오디 발효액의 이화학적 특성 조사

오디 발효액의 수분활성도는 각각의 발효병에서 측정에 필요한 시료량을 취하여 수분계(Novasina AG, LabMaster aw advanced, Lachen, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 당도, pH, 총산도 분석을 위해서는 멸균한 국자를 이용하여 오디 발효액을 떠낸 후 멸균거즈로 거른 여액을 분석시료로 사용하였다. 당도는 당도계(Atago, PAL-3, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, pH는 pH meter (Thermo Fisher Scientific, ORION STAR A211, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 총산도는 오디 발효액 여액을 탈이온수에 5배 희석한 다음 0.01 N NaOH로 pH 8.2가 될 때까지 적정한 후 소요된 0.01 N NaOH의 양을 citric acid 함량(%)으로 환산하여 나타내었다.

오디 발효액의 보관기간 중 온도에 따른 *E. coli* 및 식중독 세균수 변화

시중에 판매되는 오디 발효액을 구하여 인위적으로 *E. coli* 또는 식중독세균을 접종한 후 보관기간 동안 세균수의 변화를 조사하였다. 항생제 rifampicin에 저항성이 유도된 *E. coli*와 식중독세균인 *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. aureus*를 사전 준비된 오디 발효액 9 mL에 각각의 균주를 1 mL씩 접종, 세균수가 6~7 log CFU/mL가 되도록 하여 멸균 튜브에 담고 밀봉하였다. 한 균주당 10 mL의 접종 발효액이 담긴 여러 개의 튜브를 준비하여 각 보관온도별 및 시료채취일별로 다른 튜브를 시료채취할 수 있도록 하였다. 각각의 접종된 오디 발효액을 냉장온도인 5°C, 상온인 20°C와 30°C에 보관하면서 저장 후 0일,

1일, 2일, 4일, 7일, 10일, 14일에 *E. coli*와 식중독세균의 세균수 변화를 조사하였다. 각각의 날짜별로 채취한 10 mL의 발효액 시료는 흔들어 잘 균질화시키고, 이 중 1 mL을 취하여 9 mL의 0.1% PW에 10배씩 단계별로 희석하는 방법으로 여러 단계 희석하였다. 희석액은 각각 50 µL/mL rifampicin 함유 TSA에 0.25 mL씩 분주하여 도달한 다음 37°C에서 24시간 배양한 후 배지에서 자란 집락(colony) 수를 계수하였다.

통계분석

시간에 따른 세균수의 변화와 오디 발효액의 이화학적 특성 변화 실험결과는 모두 3회 반복 측정된 평균값과 표준편차로 표시하였다.

Results and Discussion

오디 발효액의 발효기간에 따른 *E. coli*, 대장균군 및 일반 호기성세균의 세균수 변화

오디가 발효되는 동안 접종 *E. coli*의 세균수는 오디 원물과 설탕을 무게비 1:1로 혼합한 처리구와 1:0.8로 혼합한 처리구 모두에서 점차 감소하는 양상을 보였다(Fig. 1A). 원물 무게 대비 설탕을 1:1로 첨가한 오디 발효액에서는 *E. coli* 접종 후 8주부터 1 log CFU/mL이하로 검출되다가 10주부터는 검출되지 않았다. 설탕을 1:0.8로 처리한 처리구에서는 접종 후 2주부터 1 log CFU/mL이하로 검출되다가 3주부터는 검출되지 않아 1:1 처리구보다 빠르게 *E. coli*의 세균수가 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. *E. coli*을 포함한 일반 호기성세균도 오디 발효액이 12주 동안 발효되는 동안 모든 처리구에서 세균수가 감소하였는데 Fig. 1A의 *E. coli* 세균수 변화 양상과 동일하게 1:0.8 처리구에서 더 빨리 세균수가 감소하는 양상이었다(Fig. 1B).

현재까지 식물발효액이 발효되는 동안 어떻게 미생물학적 특성이 변화되는지에 대한 연구는 매우 미진하다. 특히, 위생 및 안전성과 관련되는 발효기간 동안 오염지표 미

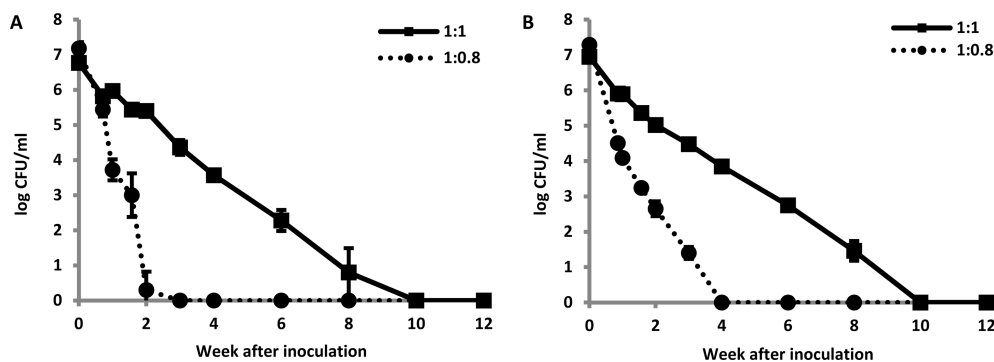


Fig. 1. Changes in microbial population of inoculated *E. coli* (A) and indigenous aerobic bacteria (B) in mulberry wort during fermentation with different sugar mixture ratio.

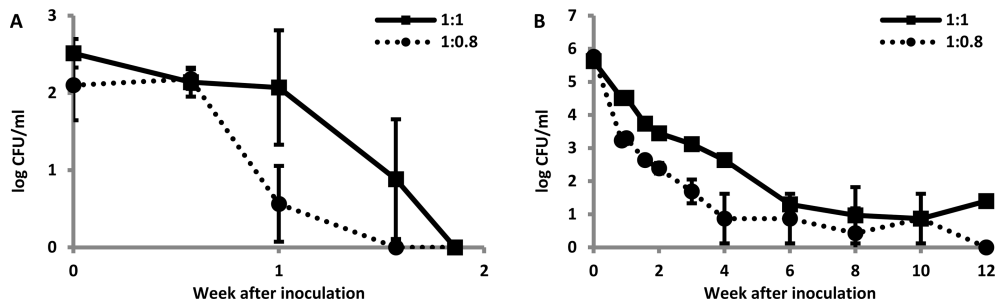


Fig. 2. Changes in microbial population of indigenous coliforms (A) and aerobic bacteria (B) in uninoculated mulberry wort control with different sugar mixture ratio.

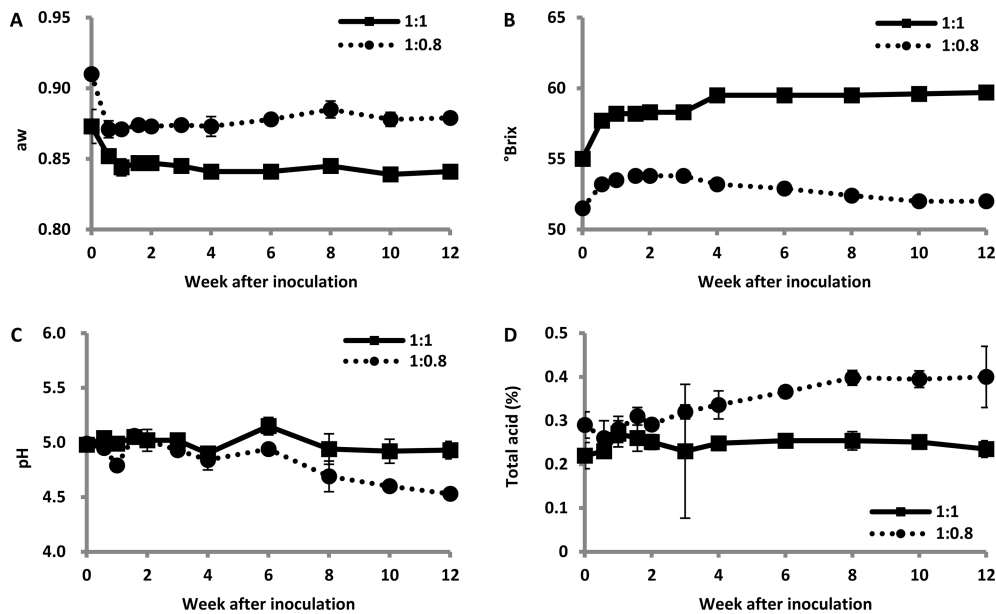


Fig. 3. Changes of chemical properties of mulberry wort during fermentation; (A) water activity, (B) sugar content, (C) pH, and (D) total acid content with different sugar mixture ratio.

생물 또는 유해 미생물의 세균수 변화에 대한 연구는 전 무한 상태이다. 다만 식물발효액의 유해미생물에 대한 항균활성에 대한 연구는 일부 수행된 바 있는데, Lee 등¹²⁾은 미나리 발효액이 *in vitro*에서 *Vibrio*와 *Salmonella*에 대해 강한 생육저해 효과를 보이며, 발효기간이 길수록 항균활성이 증가한다고 보고한 바 있고, Bae¹³⁾는 쇠비름 발효액이 신생아 설사의 주요 원인균인 *Campylobacter jejuni*에 대해 항균활성을 나타낸다고 보고한 바 있다. 식물 발효액은 설탕 등 당류의 삼투압에 의해 식물체로부터 얻은 추출물을 자체발효 또는 유산균이나 효모 등을 접종, 발효시켜 얻는 식품으로서 식물추출물의 항균활성이 세균수를 감소시키는데 영향을 미칠 수는 있지만 기본적으로는 삼투압 차이로 인해 hypertonic한 발효환경이 조성되면서 세균이 수분을 잃어 사멸하게 되는 것이 일반적으로 일어나는 과정이라고 생각되어 왔다. 그러나 본 연구에서는 설탕을 원물의 무게 대비 1:1로 혼합한 처리구보다 1:0.8로

혼합한 처리구에서 더 빠른 세균수 감소 양상을 보였으므로 삼투압뿐만 아니라 오디 발효액의 이화학적 특성 등 다른 요인이 세균수 감소에 큰 영향을 미치고 있다고 판단되었다.

*E. coli*를 접종하지 않은 음성 대조구에서는 *E. coli*가 검출되지 않았지만 본래 오디 원물에 존재하고 있던 대장균과 일반 호기성세균은 오디 발효액 발효기간 동안 검출할 수 있었다. 대장균은 오디 발효액 발효기간 2주만에 검출되지 않는 수준으로 세균수가 감소하였고(Fig. 2A), 일반 호기성세균의 세균수도 12주의 발효기간 동안 1 log CFU/mL 수준으로 감소하였다(Fig. 2B). 대장균과 일반 호기성세균의 세균수 모두 Fig. 1에서 관찰한 결과와 같이 설탕을 1:0.8로 혼합한 오디 발효액에서 더 빠른 감소를 보였다. Fig. 1과 2를 종합하여 볼 때, 설탕을 오디 원물 무게의 100% 수준으로 혼합하는 것 보다는 80% 수준이 되도록 하는 것이 오디 발효액의 위생적인 생산을 위해 바

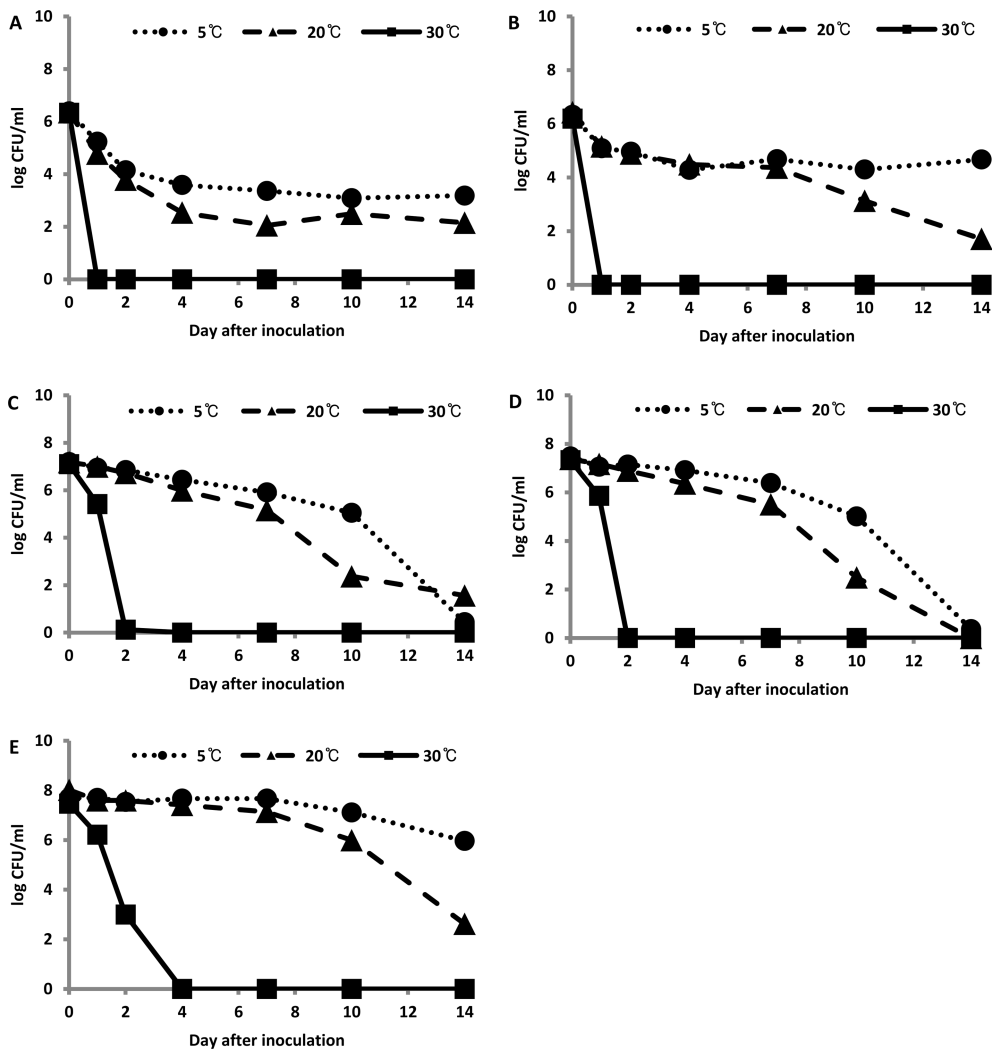


Fig. 4. Changes in microbial population of inoculated *E. coli* (A), *E. coli* O157:H7 (B), *S. Enteritidis* (C), *S. Typhimurium* (D), and *S. aureus* (E) in fully fermented mulberry wort juice during storage at different temperatures.

람직한 것으로 판단된다.

오디 발효액의 발효기간 동안 이화학적 특성

오디 발효액의 수분활성도는 설당을 1:1로 혼합한 처리구에서 발효시작 직후 0.87 수준이었으나 1주일 후 0.84 수준으로 낮아진 후 계속 이 수준을 유지하였으며, 1:0.8 처리구에서는 1:1 처리구보다 조금 높은 0.91수준에서 시작하여 1주일 후 0.88 수준으로 낮아진 후 유지가 되는 양상이었다(Fig. 3A). 설당을 1:0.8로 혼합한 처리구는 1:1 처리구에 비해 설당이 20% 덜 혼합되었기 때문에 그 만큼 수분함량이 높은 것으로 이해된다. 당도의 경우에는 수분활성도와 반대의 양상을 나타내었는데, 1:1 처리구와 1:0.8 처리구의 차이는 수분활성도와 마찬가지로 설당 함량의 차이에 의한 것으로 판단된다(Fig. 3B). pH는 두 처리구 모두 pH 5 수준의 약산성에서 시작하여 1:1 처리구의 경우 그대로 유지되는 경향이었고, 1:0.8 처리구의 경

우에는 pH가 4.5 수준까지 낮아지는 양상이었다(Fig. 3C). 이렇게 1:0.8 처리구에서 발효가 진행될수록 pH가 점차로 낮아지는 것은 총산도의 증가로 인한 것으로 볼 수 있었다(Fig. 3D). 다른 연구에서도 식물발효액의 pH는 주로 약산성으로 초기 발효가 시작되는 동안에는 조금 낮아지다가 점차로 변화가 없었는데, 미나리 발효액은 발효초기 pH 4.6에서 발효 1개월 이후 pH 3.4로 낮아졌고¹²⁾, 순무 발효액은 당함량이나 발효온도에 상관없이 발효초기에 pH 6 이었다가 발효가 진행됨에 따라 점차 낮아져 2주 후에는 pH 4 수준으로 유지되었다¹⁴⁾. Kim 등¹⁴⁾은 본 연구의 결과와 마찬가지로 pH가 낮아지는 것이 총산도 증가로 인한 것으로 설명하였다.

시판 오디 발효액의 보관온도에 따른 오염 *E. coli* 및 식중독세균의 세균수 변화

식물발효액은 원료의 오염뿐만 아니라 발효가 완료되어

소량 포장 등 제품화되는 최종 과정에서도 비위생적인 환경 또는 작업자 부주의에 의한 세균 오염이 발생할 수 있다. 식물발효액의 발효 완료까지는 오랜 시간이 걸리므로 본 연구에서는 발효 과정이 완료된 시판 오디 발효액을 구매하여 실험에 사용하였다. 즉, 시판중인 오디 발효액은 발효가 완료된 상태의 이화학적 특성을 가지고 있을 것이라고 가정하고, 구입한 오디 발효액에 *E. coli* 및 식중독 세균을 접종하여 발효액이 제품화되는 시점에서 세균에 오염되는 경우를 실험하였다.

오디 발효액에 접종된 *E. coli*는 접종 2일후까지 급격히 감소하는 양상을 보였다(Fig. 4A). 특히, 30°C에서는 1일 만에 세균이 검출되지 않는 수준까지 감소하여 이후 검출되지 않았다. 이에 반해, 보관온도 5°C와 20°C에서는 접종 2일까지는 세균수 감소가 급격하다가 이후 14일까지는 2~4 log CFU/mL 수준으로 완만하게 감소 또는 유지되는 양상이었다. 오디 발효액이 초기 발효가 되는 동안에는 *E. coli*가 검출되지 않는 수준까지 감소하는데 걸리는 시간이 3주에서 10주이였으므로(Fig. 1A) *E. coli* 접종 오디 발효액의 온도별 보관실험도 2주 이상 진행하여 *E. coli*가 완전히 사멸되는 시점까지 실험을 해야 할 것으로 판단된다. 우려 식중독세균인 *E. coli* O157:H7도 *E. coli*와 마찬가지로 보관온도 30°C에서는 1일만에 검출되지 않는 수준으로 세균수가 감소하였고, 5°C에서는 초기 1 log 감소 후 세균수가 유지되는 양상이었다(Fig. 4B). 보관온도 20°C에서는 2주동안 계속적으로 세균수가 감소하여 초기 접종 세균수 수준 대비 4 log 정도 감소하였다. *Salmonella* spp.은 *E. coli*와는 다른 감소 패턴을 나타냈는데 30°C에서는 *Salmonella* spp.이 검출되지 않는 수준까지 감소하는데 2일이 걸렸고, 보관온도 5°C와 20°C에서도 초기에 급격히 감소한 후 유지가 되는 *E. coli* 세균수 변화 양상에 비해 *Salmonella* spp.은 보관 7일까지 완만하게 감소하다 이후 세균수 감소 추세가 급격해지는 양상이었다(Fig. 4C 및 4D). *S. Typhimurium*의 경우에는 보관 2주만에 모든 보관온도에서 세균이 검출되지 않는 수준까지 감소하였다. 그람 양성균인 *S. aureus*도 *Salmonella* spp.과 유사한 세균수 감소 패턴을 보였지만 30°C에서는 세균이 검출되지 않는 수준까지 감소하는데 4일이 걸렸고, 5°C와 20°C에서도 세균수 감소 양상이 *Salmonella* spp.보다 완만하여 보관 14일까지 2~6 log CFU/mL 수준으로 계속 검출되어 완전히 사멸되는데까지는 더 오랜 시간이 소요될 것으로 생각되었다(Fig. 4E). 이는 세균의 종에 따라 생존에 필요한 수분활성도에 차이가 있기 때문에 세균수가 감소하는 속도에도 차이가 있는 것으로 보인다. *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*의 생존과 증식에 필요한 최소 수분활성도는 0.86, 0.95, 0.95이고¹⁵⁾, 시판중인 오디 발효액의 수분활성도는 0.85 정도인 점을 고려하면¹⁶⁾, 본 연구에 사용된 5종의 식중독세균은 모두 실험의 발효액 조건에서 생존과

증식이 어려운 것으로 판단할 수 있다. 그러나, 그람 양성균인 *S. aureus*는 두꺼운 peptidoglycan층을 보유하고 있어서 그람 음성균 보다 수분활성도가 낮은 환경에 비교적 잘 견디는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 본 연구 결과에서도 *S. aureus*가 다른 세균보다 사멸 속도가 느린 경향은 이러한 이유 때문인 것으로 사료된다.

오디 발효액 보관온도에 따른 *E. coli* 및 식중독세균의 세균수 변화 실험결과를 종합하면 오디 발효액을 제품으로 제조할 때 소량 포장 후 30°C의 온도에서 일주일 정도 보관하는 것이 오디 발효액의 안전성을 높이는데 도움이 될 것으로 판단된다. 다만 향후 30°C가 오디 발효액 제품의 품질에 미치는 영향에 대한 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

Acknowledgement

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업 (과제번호: PJ010005)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

국문요약

오디를 포함한 베리류의 건강 기능성이 알려지면서 생산량 증가 및 가공식품 개발이 활발해지고 있지만 베리류 과실의 특성상 상처 입거나 무르기 쉬워 생과로 유통되기 보다는 다양한 형태의 가공품으로 유통되고 있다. 베리류를 원료로 식물발효액을 제조하기도 하는데 대부분 소규모 이루어져 원료의 안전성 및 제조과정에 대한 위생관리가 시급하다. 본 연구는 오디 발효액 제조에 사용되는 원물이 유해 세균에 오염되었을 경우와 발효액으로 소량 포장되는 단계에서 유해 세균에 오염되었을 경우에 오디 발효액 발효과정 중 그리고 오염 발효액 보관과정 중 오염 세균의 세균수 변화를 조사하기 위해 수행되었다. 오디 발효액이 발효되는 동안 원물에 접종된 *E. coli*는 시간이 지나면서 감소하는 양상이었다. 특히 오디 원물의 무게 대비 100%로 설탕을 혼합한 처리구 보다는 80%로 혼합한 처리구에서 *E. coli*의 세균수 감소가 급격하였는데, 설탕을 원물 무게의 80%로 혼합하였을 때 발효과정 중 생기는 총산도가 100% 혼합처리구보다 높음으로써 결과적으로 발효액의 pH가 낮아지게 되어 발생한 결과인 것으로 판단된다. 발효가 완료되어 발효액으로 제품화되는 과정에서 식중독세균에 오염되었을 경우에는 접종 균주별로 조금씩 다른 세균수 감소 양상을 보였지만 대체적으로 보관시간이 지남에 따라 감소하는 양상이었고, 특히 30°C에서 보관하였을 때에는 실험균주 모두 4일 이내에 사멸하였다. 따라서 오디 발효액 제품화시 소량 포장 후 30°C의 온도에서 일주일 정도 보관하는 것이 오디 발효액의 미생물학

적 안전성을 높이는데 도움이 될 것으로 판단된다.

References

- Lee, Y.J., Yoon, B.R., Kim, D.B., Kim, M.D., Lee, D.W., Kim, J.K., Lee, O.H.: Antioxidant activity of fermented wild grass extracts. *Korean J. Food Nutr.*, **25**, 407-412 (2012).
- Cho, J.Y., Park, S.Y., Shin, M.J., Gao, T.C., Moon, J.H., Ham, K.S.: Isolation and identification of antioxidative compounds in fermented glasswort (*Salicornia herbacea* L.) juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**, 1137-1142 (2010).
- Yang, C.Y., Cho, M.J., Lee, C.H.: Effects of fermented turmeric extracts on the obesity in rats fed a high-fat diet. *J. Anim. Sci. Technol.*, **53**, 75-81 (2011).
- Kim, M.J., Yang, S.A., Park, J.H., Kim, H.I., Lee, S.P.: Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccharides on HepG2 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 432-437 (2011).
- Han, S.Y., Yeo, S.H., Jeong, S.T., Choi, H.S., Baek, S.Y., Park, H.Y.: Status and prospect of plant fermented liquid in Korea. *Food Sci. Ind.*, **45**, 31-43 (2012).
- DeWaal, C., Bhuiya, F.: Outbreaks by the numbers: fruits and vegetables 1990-2005. International Association for Food Protection 94th Annual Meeting. Available from: http://docview1.tlvnimg.com/tailieu/2013/20130503/docvachiase/iafpposter_5342.pdf. Accessed September 2016 (2007).
- University of Florida, Emerging Pathogens Institute: Ranking the risks: the 10 pathogen-food combinations with the greatest burden on public health. Available from: <https://folio.iupui.edu/bitstream/handle/10244/1022/72267report.pdf>. Accessed September 2016 (2011).
- Painter, J.A., Hoekstra, R.M., Ayers, T., Tauxe, R.V., Braden, C.R., Angulo, F.J., Griffin, P.M.: Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerg. Infect. Dis.*, **19**, 407-415 (2013).
- Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs: Statistical fact sheets on agriculture, forestry, livestock, and food in Korea.) Available from: <http://lib.mafra.go.kr>. Accessed September 2016 (2014).
- Kim, S.J., Park, K.S., Park, S.J., Kwon, Y.H.: Current status of blueberry culture in Korea. *Korean J. Hort. Sci. Technol.*, **31**(S2), 139 (2013).
- Kim, S.R., Lee, S.H., Kim, W.I., Kim, J.H., Chung, D.H., Yun, J.C., Ryu, K.Y.: Effect of medium, soil, and irrigation water contaminated with *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* on the microbiological safety of Lettuce. *Korean J. Hort. Sci. Technol.*, **30**, 442-448 (2012).
- Lee, K.A., Kim, M.S., Cho, H.B.: Effect of extract of fermented dropwort on intestinal bacteria and enzyme in Vitro. *Korean J. Microbiol.*, **44**, 358-361 (2008).
- Bae, J.H.: The effect of fermented extracts of *Portulaca oleracea* against *Campylobacter jejuni*. *Korean J. Food Nutr.*, **25**, 291-298 (2012).
- Kim, E.M., Cho, Y.S., Choi, H.S., Choi, Y.H., Park, S.Y., Mo, H.W.: Physicochemical properties of fermented turnip juice with different mixture ratio of materials. *Korean J. Community Living Sci.*, **21**, 481-488 (2010).
- Gibson, A. M., Roberts T. A.: The effect of pH, water activity, sodium nitrate and storage temperature on the growth of enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonellae* in a laboratory medium. *Int. J. Food Microbiol.*, **3**, 183-194 (1986).
- Valero, A., Perez-Rodriguez, F., Carrasco, E., Fuentes-Alventosa, J. M., Garcia-Gimeno R. M., Zurera G.: Modeling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *Int. J. Food Microbiol.*, **133**, 186-194 (2009).
- Takahashi, H., Kuramoto, S., Miya, S., Kimura, B.: Desiccation survival of *Listeria monocytogenes* and other potential food borne pathogens on stainless steel surfaces is affected by different food soils. *Food Control*, **22**, 633-637 (2011).